

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
21. Februar 2002 (21.02.2002)

PCT

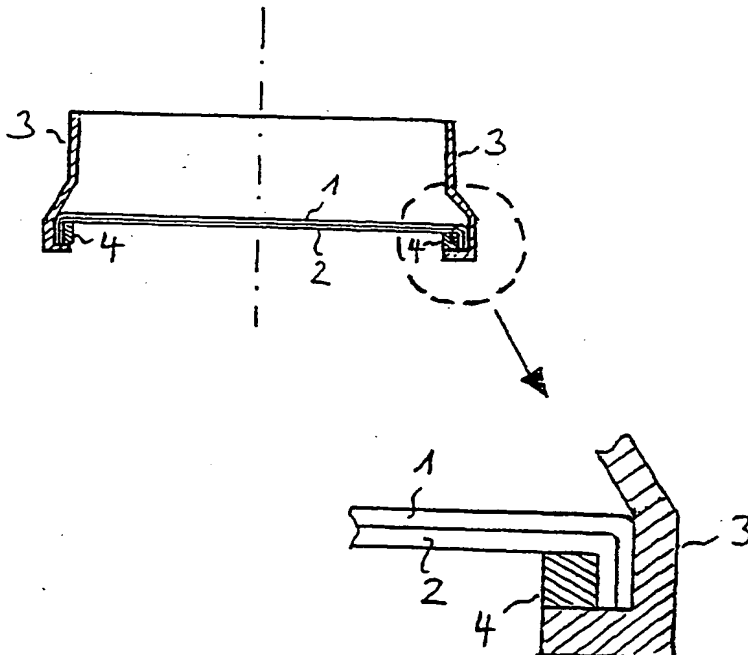
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/14833 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: G01N 1/28, 1/04 (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): P.A.L.M. MICROLASER TECHNOLOGIES AG
[DE/DE]; Am Neuland 12, 82347 Bernried (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/09468 (72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHÜTZE, Karin
[DE/DE]; Lange Strasse 8a, 82327 Tutzing (DE).
- (22) Internationales Anmeldedatum:
16. August 2001 (16.08.2001) (74) Anwalt: BANZER, Hans-Jörg; Kraus & Weisert,
Thomas-Wimmer-Ring 15, 80539 München (DE).
- (25) Einreichungssprache: Deutsch (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
100 39 979.7 16. August 2000 (16.08.2000) DE

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: SUPPORT DEVICE FOR A PREPARATION FOR THE SEPARATION OF INDIVIDUAL OBJECTS FROM THE
PREPARATION BY MEANS OF LASER IRRADIATION

(54) Bezeichnung: TRÄGERVORRICHTUNG FÜR EIN PRÄPARAT ZUM SEPARIEREN EINZELNER OBJEKTE AUS DEM
PRÄPARAT MITTELS LASERSTRAHLUNG



(57) Abstract: According to the invention, in order to separate individual, in particular, biological objects from a, in particular, biological preparation, a support device is used. A laser light absorbing membrane (1), for example made from polyester or polyethylene-naphthalene is introduced to the biological preparation for processing, preferably together with a support material (2) thereunder, for example, a glass object support, or a thicker membrane, held in a mounting device (3, 4), in particular in the form of a frame, and tensioned to give a compact unit. Said support device is particularly suitable for isolating individual biological objects from the surrounding biological material, by means of laser irradiation and to catapult the above into a collecting device. The combination of a laser light absorbing membrane (1) and a laser light transparent membrane (2) as support for the laser light absorbing membrane (1) is particularly advantageous.

(57) Zusammenfassung: Zur Separation einzelner insbesondere biologischer Objekte aus einem insbesondere biologischen

Präparat wird die Verwendung einer Trägervorrichtung vorgeschlagen, bei der eine laserlichtabsorbierende Membran (1), beispielsweise aus Polyester oder Polyethylen-Naphthalin, auf der das zu bearbeitende biologische Präparat aufzubringen ist, vorzugsweise zusammen mit einem darunter befindlichen Trägermittel (2), beispielsweise einem Glas-Objekträger oder einer dickeren Membran, durch eine insbesondere als Rahmen ausgestaltete Haltevorrichtung (3, 4) gehalten und gespannt wird, so dass eine kompakte Einheit bereitgestellt

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 02/14833 A1



CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

- (84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

wird. Die erfindungsgemäße Trägervorrichtung eignet sich insbesondere dazu, einzelne biologische Objekte mittels Laserstrahlung aus einem umgebenden biologischen Material herauszulösen und in eine Auffangvorrichtung zu katapultieren. Insbesondere die Kombination einer laserlichtabsorbierenden Membran (1) und einer laserlicht-durchlässigen Membran (2) als Stütze für die laserlichtabsorbierende Membran (1) ist vorteilhaft.

- 1 -

5 Trägervorrichtung für ein Präparat zum Separieren einzelner
 Objekte aus dem Präparat mittels Laserstrahlung

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Trägervorrichtung für ein Präparat, insbesondere ein biologisches Präparat, welche dazu geeignet ist, einzelne in dem Präparat enthaltene Ob-
10 jekte, insbesondere biologische Objekte wie Zellen oder Chromosomen, aus dem Präparat mittels Laserstrahlung herauszulösen und somit von dem Präparat zu separieren.

Gattungsgemäße Trägervorrichtungen werden beispielsweise auf
15 dem Gebiet der Mikrodissektion zum Sortieren und zur Gewinnung einzelner biologischer Zellen verwendet. Ein entsprechendes Verfahren ist beispielsweise in der WO 97/29355 A der Anmelderin beschrieben. In dieser Druckschrift wird vorgeschlagen, ein selektiertes biologisches Objekt von der auf
20 einem planaren Träger befindlichen umgebenden biologischen Masse durch einen Laserstrahl abzutrennen, so dass das selektierte biologische Objekt von der umgebenden biologischen Masse frei präpariert ist. Zu diesem Zweck wird das selektierte biologische Objekt mittels Laserstrahlung aus der um-
25 gebenden biologischen Masse herausgeschnitten. Das somit frei präparierte biologische Objekt wird anschließend mit Hilfe eines Laserschusses von dem Träger zu einer Auffangvorrichtung katapultiert, wobei es sich bei der Auffangvorrichtung beispielsweise um ein Auffangsubstrat oder eine Auffangkappe
30 ("Cap") handeln kann. In der Regel wird dieses Verfahren in Kombination mit einer entsprechenden Mikroskopanordnung angewendet, um den Schneide- und Katapultierprozess mikroskopunterstützt steuern zu können. Die Steuerung des Laserstrahls zum Herausschneiden und/oder Herauskatapultieren eines selek-

- 2 -

tierten biologischen Objekts kann rechnergestützt erfolgen. Zur Gewinnung, d.h. Separierung, eines einzelnen biologischen Objekts ist nicht unbedingt erforderlich, dass zuerst ein Schneidevorgang und anschließend ein Katapultiervorgang mit
5 Hilfe zwei separater Laserbestrahlungen durchgeführt wird, sondern Untersuchungen haben ergeben, dass in Abhängigkeit von der Laserenergie und dem Laserfokus sowie der Beschaffenheit des jeweils zu behandelnden biologischen Materials auch bereits ein einzelner Laserschuss ausreichen kann, um das ge-
10 wünschte biologische Objekt direkt aus der umgebenden biologischen Masse herauszulösen und in die Auffangvorrichtung zu katapultieren.

Das mit der Laserstrahlung zu bearbeitende Präparat befindet
15 sich in der Regel auf einem Glasobjektträger. Es kann sich jedoch auch auf einer das jeweilige Laserlicht absorbierenden Trägermembran, welche im Laufe des Schneidevorgangs zusammen mit dem Präparat geschnitten wird, befinden. In dem nachfolgenden Katapultiervorgang wird das frei präparierte biologische Objekt zusammen mit dem entsprechenden herausgeschnittenen Membranteil in die Auffangvorrichtung katapultiert. Die
20 Verwendung einer derartigen Trägermembran ist vorteilhaft, da sich damit größere Objekte in ihrer Gesamtheit mit einzelnen Laserschüssen herauskatapultieren lassen, wobei die Trägermembran wie ein Tablett wirkt, mit dem auch größere Areale
25 transportiert bzw. katapultiert werden können. Kleinere biologische Objekte, wie beispielsweise Filamente oder Chromosomen, lassen sich leichter frei präparieren, da sie an der Trägermembran haften bleiben und anschließend in dem Ka-
30 tapultiervorgang zusammen mit dem entsprechenden Membranteil morphologisch intakt in die Auffangvorrichtung katapultiert werden können.

Die Handhabbarkeit einer derartigen Trägermembran ist jedoch
35 äußerst problematisch, da es sich bei dieser Membran um eine

- 3 -

sehr dünne Membran mit einer Dicke im Mikrometerbereich handelt. Zusammen mit der Trägermembran, welche zur Aufnahme des zu bearbeitenden Präparats dient, muss daher ein laserlichtdurchlässiger Träger zum Tragen der Membran oder als Unterstützung der Membran verwendet werden. Dabei wird herkömmlicherweise ein Glas-Objektträger verwendet, wie er in bekannten Mikroskopen oder dergleichen verwendet wird. Das Aufbringen der Membran auf den Glas-Objektträger erfolgt dann in der Regel per Handarbeit, d.h. die Membran wird von dem jeweiligen Benutzer auf den Glas-Objektträger gelegt und gegebenenfalls durch Anbringen eines Spezialklebstoffes zwischen Membran und Glas-Objektträger an dem Glas-Objektträger befestigt.

Diese Vorgehensweise ist jedoch relativ aufwändig. Zudem kann nicht verhindert werden, dass aufgrund der "Welligkeit" der Membran einzelne Zwischenräume zwischen der Membran und dem Objektträger auftreten, die für die Laserbehandlung und die üblicherweise simultan erfolgende Mikroskopbetrachtung hinderlich sind. Derartige Zwischenräume treten auch beim Anbringen eines Klebemittels zum Kleben der Membran auf den Objektträger auf, da insbesondere im Bereich biologischer, chemischer oder medizinischer Analysen bzw. Experimente häufig mit wässrigen Lösungen oder wässrigen Präparaten (z.B. Alkohol) gearbeitet wird, so dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass es zum Kontakt zwischen dem Klebemittel und Wasser kommt, was bei Verwendung eines wasserlöslichen Klebemittels die unerwünschte Folge hat, dass sich die Membran von dem Objektträger löst.

Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine Trägervorrichtung für ein Präparat, insbesondere ein biologisches Präparat, bereitzustellen, welche zum Separieren einzelner Objekte aus dem Präparat mittels Laserstrahlung geeignet ist und eine leichtere Handhabbarkeit der verwendeten

- 4 -

Membran und damit eine leichtere Durchführung des Separationsprozesses ermöglicht.

5 Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch eine Trägervorrichtung mit den Merkmalen des Anspruchs 1 gelöst. Die Unteransprüche definieren jeweils bevorzugte und vorteilhafte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung.

10 Erfindungsgemäß ist eine Haltevorrichtung oder ein Haltemittel vorgesehen, um die laserlichtabsorbierende Membran zu spannen und somit das zuvor beschriebene Problem der Welligkeit zu lösen.

15 Die Membran, welche zur Aufnahme des jeweils mittels Laserstrahlung zu bearbeitenden Präparats dient, kann auf einem Trägermittel aufliegen, wobei das Haltemittel ausgestaltet ist, um die Membran und das Trägermittel zusammenzuhalten. Auf diese Weise wird eine Einheit zwischen der Membran und dem Trägermittel geschaffen, d.h. die Membran und das Trägermittel werden in Form eines "Pakets" bereitgestellt, wodurch
20 die Handhabbarkeit der gesamten Trägervorrichtung erleichtert wird.

25 Bei dem Trägermittel kann es sich beispielsweise um herkömmliche laserlichtdurchlässige Objektträger, insbesondere aus Glas, handeln, wobei die Haltemittel beispielsweise in Form eines insbesondere umlaufenden Rahmens ausgestaltet sind, so dass die Membran einerseits fest an dem Objektträger befestigt und andererseits gespannt ist, um Zwischenräume zwischen
30 der Membran und dem Objektträger sowie eine "wellige" Oberfläche der Membran zu verhindern. Die Membran kann z.B. unter Anwendung von Wärme geglättet (z.B. mittels Vakuum) auf den Objektträger aufgebracht werden.

- 5 -

Ebenso kann es sich bei dem Trägermittel um eine gegenüber der laserlichtabsorbierenden Membran relativ dicke Membran handeln, beispielsweise aus Teflon mit einer Dicke von ca. 20 µm. Auch hier können die beiden Membrane durch in Form eines Rahmens ausgestaltete Haltemittel fest als eine Einheit zusammengehalten werden.

Besonders vorteilhaft ist es, die erfindungsgemäßen Haltemittel in Form einer Petrischale auszugestalten, wobei in der Petrischale die laserlichtabsorbierende Membran, welche zur Aufnahme des jeweils zu bearbeitenden Präparats dient, und eine zum Stützen bzw. Tragen dieser Membran vorgesehene weitere Membran unmittelbar aneinanderliegend gehalten werden. In der Petrischale können somit lebende Zellen oder Zellkulturen gezüchtet werden, welche anschließend von der laserlichtabsorbierenden Membran per Laserstrahlung herauskatapultiert werden, wobei das Herauskatapultieren direkt oder nach einem vorhergehenden Ausschneiden erfolgen kann.

Ein weiteres erfindungsgemäßes Ausführungsbeispiel sieht vor, die laserlichtabsorbierende Membran, welche durch die Laserstrahlung zusammen mit dem darauf befindlichen Präparat geschnitten bzw. wegkatapultiert wird, durch ein in Form einer Maske ausgebildetes Klebeband auf dem darunter befindlichen Trägermittel, beispielsweise in Form eines Glas-Objektträgers oder in Form einer dickeren laserlichtdurchlässigen Membran (z.B. aus Teflon), zu befestigen. Dabei wird das Klebeband derart angebracht, dass die laserlichtabsorbierende Membran direkt auf dem darunter befindlichen Trägermittel aufliegt und die Randbereiche dieser Membran mittels des Klebebands an dem darunter befindlichen Trägermittel befestigt werden, um die laserlichtabsorbierende Membran zu spannen.

Die erfindungsgemäße laserlichtabsorbierende Membran kann beispielsweise aus Polyester oder Polyethylen-Naphthalin be-

- 6 -

stehen. Die Polyethylen-Naphthalin-Membran besitzt den Vorteil, dass sie sich mittels Laserstrahlung, beispielsweise mittels UV-Lasterstrahlung, sehr gut schneiden lässt, so dass sich mit relativ geringer Schnittenergie eine sehr gute

5 Schnittlinie ergibt. Der Einsatz der Polyethylen-Naphthalin-Membran ist insbesondere in Kombination mit Glas-Objektträgern sinnvoll und vorteilhaft. Zum Schneiden von Objekten, z.B. Chromosomen oder Filamenten, die in einem biologischen Material eng beieinander liegen, ist in einem gewissen

10 Maße zunächst eine Ablation des biologischen Materials erforderlich, um eine reine Probenpräparation zu ermöglichen. Dabei erfolgt die Ablation mit einer geringeren Laserenergie. Bei der Ablation sollte die Membran, auf der sich das biologische Material befindet, nicht zerstört werden. Unter diesem

15 Gesichtspunkt kann die Verwendung einer Polyester-Membran vorteilhaft sein, da diese Membran eine selektive Ablation des darauf befindlichen biologischen Materials ohne Zerstörung der Membran ermöglicht. Die Polyester-Membran kann daher immer dann zum Einsatz kommen, wenn sehr kleine biologische

20 Objekte, wie beispielsweise Zellkompartimente, Chromosomen, Filamente oder Kernteile, aus dem umgebenden biologischen Material herausgeschnitten bzw. herauskatapultiert werden sollen.

25 Allgemein ist zu bemerken, dass die Kombination einer laserlichtabsorbierenden Membran mit einer darunter befindlichen Trägerfolie zum Stützen der erstgenannten Membran vorteilhaft ist, da bei einer Membran-Membran-Kombination mit einem Objektiv mit kurzem Arbeitsabstand, beispielsweise mit einem

30 100x-Objektiv, gearbeitet werden kann, was insbesondere für die Betrachtung von Filamenten oder Chromosomen von Vorteil ist. Bei Verwendung von normalen Glas-Objektträgern (Dicke 1 mm) können in der Regel nur mit einem Objektiv mit größerem Arbeitsabstand, beispielsweise mit einem 40x-Objektiv, zufriedenstellende

35 Ergebnisse erzielt werden.

- 7 -

Da auf dem Gebiet chemischer, medizinischer oder biologischer Analysen bzw. Experimente häufig mit Zellflüssigkeiten etc. gearbeitet wird, sollte zumindest die laserlichtabsorbierende

5 Membran, welche zur Aufnahme des jeweils zu bearbeitenden Präparats dient und zusammen mit dem Präparat geschnitten bzw. wegkatapultiert wird, hydrophilisiert sein, um ein "Abperlen" der auf dieser Membran befindlichen Flüssigkeit zu verhindern und eine gleichmäßige Verteilung der Flüssigkeit

10 auf der Membran zu ermöglichen. Vorteilhafterweise sollte bei Verwendung einer Stütz- oder Trägerfolie auch diese zweite Membran hydrophilisiert sein. Die Hydrophilisierung der Membrane kann allgemein mit Hilfe herkömmlicher Prozesse bewerkstelligt werden, beispielsweise durch Plasmaprozesse, welche

15 eine Ionisierung der Membranoberfläche zur Folge haben.

Die vorliegende Erfindung kann - wie zuvor beschrieben worden ist - vorzugsweise zur Bearbeitung biologischer Präparate und zum Separieren einzelner biologischer Objekte, wie beispielsweise lebender oder fixierter biologischer Zellen oder Zellbestandteile, Chromosomen oder Filamente etc., verwendet werden. Ebenso ist jedoch die vorliegende Erfindung auch zur Laserbehandlung von nicht biologischen Objekten bzw. unbelebter

20 Materie geeignet, um z.B. mikroskopisch kleine Objekte aus Glas, Silica oder Kunststoffe aus einem entsprechenden umgebenden Material herauszulösen. Die vorliegende Erfindung wird jedoch nachfolgend zur Veranschaulichung anhand des Beispiels der Separation einzelner biologischer Objekte aus einer biologischen Masse bzw. einem biologischen Präparat beschrieben,

25 wobei insbesondere bevorzugte Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung erläutert werden.

30

Figur 1 zeigt eine Darstellung einer Trägervorrichtung gemäß einem ersten Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung,

35

- 8 -

Figur 2 zeigt eine Darstellung einer Trägervorrichtung gemäß einem zweiten Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung,

Figur 3 zeigt eine Darstellung einer Trägervorrichtung gemäß
5 einem dritten Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung,
und

Figur 4 zeigt eine Darstellung einer Trägervorrichtung gemäß
einem vierten Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung.

10

Die in Figur 1 im Querschnitt gezeigte Trägervorrichtung ist in Form einer sogenannten Petrischale ausgestaltet. Dabei handelt es sich um einen im vorliegenden Fall zylinderförmigen Grundkörper 3, dessen Oberseite offen ist, während die
15 Unterseite von einer ersten Membran 2 abgedeckt ist. Diese Membran 2 kann beispielsweise aus Teflon bestehen und eine Dicke von ca. 20 µm aufweisen. Die Membran 2 ist an der Unterseite des Grundkörpers 3 mit Hilfe eines umlaufenden kreisförmigen Rings 4 zwischen dem Ring 4 und dem Grundkörper
20 3 eingespannt und planar. Derartige Petrischalen sind allgemein bekannt und handelsüblich. Der besondere Vorteil derartiger Petrischalen bzw. der darin verwendeten Membran 2 liegt darin, dass auf der Membran 2 lebende Zellkulturen gezüchtet werden können.

25

Erfindungsgemäß ist unmittelbar auf der Membran 2 eine weitere Membran 1 angeordnet, welche derart ausgestaltet ist, dass sie mittels Laserstrahlung geschnitten werden kann bzw. Objekte von ihr mit Hilfe des zuvor beschriebenen Laserkatapultiereffekts (auch direkt) wegkatapultiert werden können. Die
30 Membran 1 muss demzufolge laserlichtabsorbierend ausgestaltet sein, während die Membran 2 bei Laserlichtbestrahlung nicht von dem Laserlicht beschädigt werden darf und daher laserlichtdurchlässig sein sollte. Die laserlichtabsorbierende
35 Membran 1 wird wie die laserlichtdurchlässige Membran 2 zwi-

- 9 -

schen dem Ring 4 und dem Grundkörper 3 der Petrischale derart eingespannt, dass sich eine planare Oberfläche ergibt. Die beiden Membrane 1 und 2 können gegebenenfalls aneinander geklebt sein oder aneinander haften.

5

Auf die laserlichtabsorbierende Membran 1 ist das zu bearbeitende biologische Material aufzutragen. Die Ausgestaltung der erfindungsgemäßen Trägervorrichtung in Form einer Petrischale ist insbesondere deshalb vorteilhaft, da in der Petrischale
10 Zellkulturen gezüchtet werden können, welche anschließend unmittelbar einer Laserbehandlung zum Separieren einzelner biologischer Objekte aus dem jeweiligen biologischen Material unterzogen werden können, ohne die Zellkulturen aus der Petrischale entnehmen und auf einen herkömmlichen Objektträger
15 aufbringen zu müssen.

Zur Laserbehandlung wird die in Figur 1 gezeigte Petrischale mit dem darin befindlichen Material beispielsweise derart oberhalb einer Laseranordnung positioniert, dass der von der
20 Laseranordnung erzeugte Laserstrahl von unten auf die Petrischale trifft und die laserlichtdurchlässige Membran 2, welche als Boden bzw. Stütze für die wesentlich dünnere laserlichtabsorbierende Membran 1 dient, durchwandert. Da es sich bei der Membran 1 um eine laserlichtabsorbierende Membran
25 handelt, kann nunmehr mit Hilfe des Laserstrahls durch eine entsprechende Relativbewegung zwischen der Petrischale und dem Laserstrahl die Membran 1 mit dem darauf befindlichen biologischen Material geschnitten werden, um einzelne zuvor selektierte biologische Objekte aus dem umgebenden biologischen Material herauszuschneiden. Wurden auf diese Weise die
30 gewünschten biologischen Objekte separiert, kann mit Hilfe eines einzelnen Laserschusses oder einzelner Laserschüsse das jeweils gewünschte biologische Objekt mit dem entsprechenden herausgeschnittenen Membranteil der laserlichtabsorbierenden
35 Membran 1 nach oben in eine geeignete Auffangvorrichtung,

- 10 -

beispielsweise in ein Auffangsubstrat oder in eine Auffang-
kappe, katapultiert werden. Dies geschieht aufgrund eines la-
serinduzierten Katapultiervorgangs, der näher in der eingangs
beschriebenen WO 97/29355 A, auf welche diesbezüglich verwie-
5 sen wird, erläutert ist. Die Laseranordnung kann beispiels-
weise in ein herkömmliches (aufrechtes oder inverses) Mikro-
skop integriert sein, um mit Hilfe der Mikroskopbetrachtung
die gewünschten biologischen Objekte beispielsweise computer-
unterstützt selektieren und anschließend (ebenfalls computer-
10 unterstützt) per Laserbestrahlung separieren zu können. Un-
tersuchungen haben ergeben, dass abhängig von der Beschaffen-
heit des zu bearbeitenden biologischen Materials bzw. der La-
serart und der jeweils eingestellten Laserenergie sowie des
Laserfokus auf den Schneidevorgang und einzelne biologische
15 Objekte direkt aus dem biologischen Material mit Hilfe eines
Laserschusses herauskatapultiert werden können.

Zur Laserbehandlung wird in der Regel ein gepulster Laser,
welcher UV-Laserlicht emittiert, eingesetzt. Dabei kann es
20 sich um einen N₂-Laser, einen Excimer-Laser, einen Nd:YAG-La-
ser oder einen Ar-Ionenlaser etc. handeln.

Wie bereits erwähnt worden ist, ist die laserlichtabsorbie-
rende Membran 1, auf welcher das zu bearbeitende biologische
25 Material befindlich ist, wesentlich dünner als die als Stütze
dienende Membran 2. Als laserlichtabsorbierende Membran 1
kann beispielsweise eine Polyester-Membran mit einer Dicke
von 0,9 µm - 1 µm oder eine Polyethylen-Naphthalin-Membran
mit einer Dicke von ca. 1,35 µm verwendet werden. Die Poly-
30 ethylen-Naphthalin-Membran ist beispielsweise zur Laserbe-
handlung von Zellgewebe vorteilhaft, da sie sich mit relativ
geringer Laserenergie sehr gut schneiden lässt. Dagegen ist
die Polyester-Membran von Vorteil, wenn eng beieinander lie-
gende biologische Objekte, wie beispielsweise Chromosomen o-
35 der Filamente, aus dem umgebenden biologischen Material her-

- 11 -

auskatapultiert werden sollen, da hierfür für eine Probengewinnung häufig zunächst eine selektive Ablation des umliegenden biologischen Materials erforderlich ist, was bei Anwendung einer Polyester-Membran ohne Zerstörung der Membran möglich ist.

Insgesamt wird - wie aus Figur 1 ersichtlich ist - eine sehr kompakte Trägervorrichtung für ein mittels Laserstrahlung zu behandelndes biologisches Material bereitgestellt, wobei sich diese Trägervorrichtung insbesondere als Einwegartikel herstellen lässt. Ein manuelles Aufbringen der laserlichtabsorbierenden Membran 1 auf das darunter befindliche Trägermaterial 2, welches im vorliegenden Fall ebenfalls in Form einer Membran ausgestaltet ist, entfällt. Da beide Membrane 1 und 2 zwischen dem Grundkörper 3 und dem Ring 4 eingespannt sind, ist eine planare Oberfläche insbesondere der Membran 1 sowie ein enges Aneinander-Liegen der Membrane 1 und 2 gewährleistet. Eine "wellige" Oberfläche beider Membrane wird auf diese Weise verhindert.

In Figur 2 ist ein zweites Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Trägervorrichtung dargestellt.

Auch in Figur 2 ist die laserlichtabsorbierende Membran mit dem Bezugszeichen 1 und die darunter befindliche und als Stütze bzw. Auflage für die laserlichtabsorbierende Membran dienende laserlichtdurchlässige Membran mit dem Bezugszeichen 2 versehen. Hinsichtlich der Beschaffenheit beider Membrane wird auf die obigen Ausführungen zu dem in Figur 1 gezeigten Ausführungsbeispiel verwiesen. Wie insbesondere aus der in Figur 2 gezeigten vergrößerten Querschnittsansicht eines Randbereichs der dargestellten Trägervorrichtung ersichtlich ist, werden die beiden Membrane 1 und 2 durch einen Rahmen 3, welcher beispielsweise aus Kunststoff gefertigt ist, derart zusammengehalten, dass die beiden Membrane 1 und 2 eng anein-

- 12 -

ander bzw. unmittelbar aufeinander liegen und insgesamt eine kompakte Einheit bereitgestellt wird, welche entsprechend leicht zu handhaben ist. Bei dem in Figur 2 gezeigten Ausführungsbeispiel sind die beiden Membrane 1 und 2 in den vollständig umlaufenden Rahmen 3 eingespannt. Der Rahmen 3 erfüllt analog zu dem in Figur 1 gezeigten Ausführungsbeispiel somit im Prinzip zwei Funktionen, nämlich einerseits die planare Oberfläche der beiden Membrane 1 und 2 herbeizuführen und andererseits die beiden Membrane 1 und 2 fest zusammenzuhalten. Bei dem Rahmen 3 kann es sich beispielsweise ebenso um einen flachen Metallrahmen, vorzugsweise aus Edelstahl, handeln.

Wie aus Figur 2 ersichtlich ist, ist die dargestellte Trägervorrichtung in Form eines herkömmlichen Objektträgers ausgestaltet, wie er insbesondere in handelsüblichen Mikroskopen zu verwenden ist. Zur Laserbearbeitung des auf der laserlichtabsorbierenden Membran 1 befindlichen biologischen Materials kann die dargestellte Trägervorrichtung wie bezüglich des in Figur 1 dargestellten Ausführungsbeispiels erläutert oberhalb (bzw. bei Verwendung eines aufrechten Mikroskops unterhalb) einer Laseranordnung positioniert und beispielsweise mit UV-Laserlicht bestrahlt werden, um einzelne biologische Objekte aus dem umgebenden biologischen Material herauszulösen und in eine Auffangvorrichtung zu katapultieren.

Grundsätzlich kann anstelle einer laserlichtdurchlässigen Membran auch ein fester laserlichtdurchlässiger Körper verwendet werden, welcher als Träger bzw. als Stütze für die darauf befindliche laserlichtabsorbierende Membran 1 dient. Dabei kann es sich insbesondere um einen herkömmlichen Glas-Objektträger handeln, welcher handelsüblich beispielsweise eine Dicke von ca. 1 mm oder ca. 0,17 mm aufweist. Mit Hilfe des Rahmens 3 wird dann die laserlichtabsorbierende Membran, welche durch das entsprechende Laserlicht geschnitten und zu-

- 13 -

sammen mit den darauf befindlichen biologischen Objekten mit Hilfe eines Laserschusses herauskatapultiert wird, sowie der Glas-Objektträger 2 fest zusammengehalten. Die Verwendung eines Glas-Objektträgers ist zwar grundsätzlich zur Laserbear-
5 beitung von Zellgewebe geeignet, dünne Glas-Objektträger (Dicke 0,17 mm) brechen jedoch sehr leicht und normale Glas-Objektträger (Dicke 1 mm) sind nur für Objektive mit relativ großem Arbeitsabstand geeignet. Bei Verwendung einer Membran-Membran-Kombination können hingegen auch Objektive mit gerin-
10 gem Arbeitsabstand, z.B. 100x-Objektive, eingesetzt werden.

In Figur 3 ist ein weiteres Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung dargestellt, wobei wiederum einerseits eine perspektivische Ansicht und andererseits eine vergrößerte
15 Querschnittsansicht eines Randbereichs dieses Ausführungsbeispiels dargestellt ist.

Bei dem in Figur 3 gezeigten Ausführungsbeispiel wird als Trägermaterial ein herkömmlicher Glas-Objektträger 2 verwendet, auf dem eine laserlichtabsorbierende Membran aufliegt.
20 Die laserlichtabsorbierende Membran 1 wird auf dem Glas-Objektträger 2 mit Hilfe eines insbesondere umlaufenden Klebemittels bzw. Klebebands 3 gehalten, welches die Form einer dem Glas-Objektträger entsprechenden Maske besitzt, d.h. das
25 Klebeband 3 ist in Form eines rechteckförmigen Rands ausgebildet, wobei der innere Randbereich auf der seitlichen Oberfläche der Membran 1 aufliegt, während der äußere Randbereich des Klebebands 3 auf der äußeren Oberfläche des Glas-Objektträgers aufliegt, so dass die laserlichtabsorbierende
30 Membran und der Glas-Objektträger 2 fest zusammengehalten werden und wiederum eine äußerst kompakte Einheit, welche entsprechend einfach zu handhaben ist, bereitgestellt wird.

Anstelle des Glas-Objektträgers kann analog zu den in Figur 1
35 und Figur 2 gezeigten Ausführungsbeispielen selbstverständ-

- 14 -

lich auch eine Stützfolie verwendet werden. Hinsichtlich der Beschaffenheit der laserlichtabsorbierenden Membran 1 sowie des Objektträgers 2 bzw. der entsprechenden Trägerfolie sei wiederum auf die zuvor beschriebenen Ausführungsbeispiele
5 verwiesen.

In Figur 4 ist ein weiteres Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Trägervorrichtung dargestellt.

10 Dabei ist in Figur 4 die Trägervorrichtung grundsätzlich ähnlich zu der in Figur 2 dargestellten Trägervorrichtung aufgebaut und in Form einer Querschnittsansicht dargestellt. Die Trägervorrichtung umfasst somit einen Rahmen 3, der die laserlichtabsorbierende Membran 1 und die darunter befindliche
15 und als Stütze bzw. Auflage für die laserlichtabsorbierende Membran dienende laserlichtdurchlässige Membran 2 zusammenhält und spannt. Der Rahmen 3 ist möglichst dünn ausgestaltet, um ein näheres Anfahren des Objektivs des jeweils verwendeten Mikroskops an das auf der laserlichtabsorbierenden
20 Membran 1 befindliche Präparat zu ermöglichen. Darüber hinaus kann mit einem möglichst flachen Rahmen 3 auch der zum Auffangen von herauskatapultierten biologischen Objekten verwendete Auffangbehälter näher an die Trägervorrichtung heranbewegt werden, so dass die biologischen Objekte mit einer ge-
25 ringeren Streuung herauskatapultiert werden können.

Als Ergänzung zu dem in Figur 2 dargestellten Ausführungsbeispiel ist gemäß Figur 4 auf den Rahmen 3 ein quaderförmiger Behälter 5 mit einem (nicht gezeigten) Einfüllanschluss für
30 lebende (flüssige) Zellkulturen aufgesetzt und beispielsweise mit Hilfe eines Silikonklebstoffes 6 an dem Rahmen 3 angeklebt. Das Innere des Behälters 5 ist somit luftdicht abgedichtet, so dass die in dem Behälter 5 und auf der laserlichtabsorbierenden Membran 1 befindlichen Zellkulturen in
35 einem Brutschrank auf der Trägervorrichtung wachsen können.

- 15 -

Zur Verwendung der in Figur 4 dargestellten Trägervorrichtung in einem Laser-Mikrodissektionssystem der zuvor beschriebenen Art kann der Behälter 5 durch Ausüben einer entsprechenden Zugkraft von dem Rahmen 3 abgerissen werden, so dass die danach verbleibende Trägervorrichtung analog zu der in Figur 2 gezeigten Trägervorrichtung verwendet werden kann. Die durch den Silikonklebstoff 6 bewerkstelligte Befestigung des Behälters 5 an dem Rahmen 3 ist somit lösbar.

- 10 Selbstverständlich kann der Behälter auch auf andere Art und Weise lösbar an der Trägervorrichtung bzw. vorzugsweise an dem Rahmen 3 der Trägervorrichtung befestigt werden, beispielsweise durch eine Vakuumbefestigung. Darüber hinaus muss der Behälter 5 nicht unbedingt wie bei dem in Figur 4 gezeigten Ausführungsbeispiel einen auf den Umfang des umlaufenden Rahmens 3 abgestimmten Umfang aufweisen. Die Höhe des Behälters 5 kann beispielsweise in der Größenordnung von 1 cm liegen.
- 20 Bei den zuvor erläuterten und in Figur 1-4 gezeigten Ausführungsbeispielen wurde jeweils ein Trägermittel 2 als Stütze für die laserlichtabsorbierende Membran 1 verwendet. Die Verwendung einer laserlichtabsorbierenden Membran (vgl. die in Figur 1, Figur 2 und Figur 4 dargestellten Ausführungsbeispiele) als Trägermittel 2 ist gegenüber der Verwendung eines Glas-Objektträgers (vgl. das in Figur 3 dargestellte Ausführungsbeispiel) insbesondere bei stark vergrößernden Mikroskopen vorteilhaft, da eine Stützmembran bessere optische Eigenschaften aufweist und somit die Mikroskopierfähigkeit verbessert.
- 30

Die vorliegende Erfindung ist jedoch nicht auf die Verwendung eines Trägermittels der zuvor beschriebenen Art beschränkt, sondern es kann auch vollständig auf ein Trägermittel 2 verzichtet werden, wobei dann lediglich die laserlichtabsorbierende

35

- 16 -

rende Membran wie zuvor beschrieben gehalten und gespannt wird, um eine ausreichend große Straffheit der laserlichtabsorbierenden Membran 1 zu erzielen. Eine derartige Anordnung ist insbesondere dann ausreichend, wenn trockene Präparate
5 verwendet werden. Dabei kann die laserlichtabsorbierende Membran 1 beispielsweise auf den Rahmen 3 aufgeklebt sein, was insbesondere dann genügt, wenn das auf die laserlichtabsorbierende Membran 1 aufgebrachte Präparat anschließend keinen weiteren chemischen Prozeduren unterzogen wird. Die in
10 den Figuren 1-4 dargestellte Art der Halterung der laserlichtabsorbierenden Membran 1 in dem Rahmen 3 ohne Verwendung eines Klebstoffes ist hingegen aufgrund der verbesserten Chemikalienresistenz vorteilhaft, wenn das auf die laserlichtabsorbierende Membran 1 aufgebrachte Präparat chemischen
15 Prozeduren unterzogen werden soll.

Bei Verwendung von flüssigen Präparaten, wie beispielsweise lebenden Zellen, ist die Verwendung eines Trägermittels 2 der zuvor beschriebenen Art, insbesondere einer Stützmembran,
20 vorteilhaft, da ansonsten bei Verwendung lediglich der laserlichtabsorbierenden Membran 1 als Träger für das darauf befindliche biologische Material beim Ausschneiden und Katapultieren einzelner biologischer Objekte Flüssigkeit durch die dann entstehenden Löcher in der Membran 1 fließen würde.

25

- 17 -

PATENTANSPRÜCHE

1. Trägervorrichtung für ein Präparat, insbesondere für ein biologisches Präparat, zum Separieren einzelner Objekte aus dem Präparat mittels Laserstrahlung,
5 mit einer laserlichtabsorbierenden Membran (1) zur Aufnahme des Präparats,
dadurch gekennzeichnet,
dass Haltemittel (3, 4) zum Halten und Spannen der laserlichtabsorbierenden Membran (1) vorgesehen sind.
10
2. Trägervorrichtung nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
dass die laserlichtabsorbierende Membran (1) eine Polyethylen-Naphthalin-Membran ist.
15
3. Trägervorrichtung nach Anspruch 2,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Polyethylen-Naphthalin-Membran eine Dicke von ca. 1,35 µm besitzt.
20
4. Trägervorrichtung nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
dass die laserlichtabsorbierende Membran (1) eine Polyester-Membran ist.
25
5. Trägervorrichtung nach Anspruch 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Polyester-Membran eine Dicke von 0,9 µm - 1 µm besitzt.
30
6. Trägervorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,

- 18 -

dass die Haltemittel (3, 4) derart ausgestaltet sind, dass sie die laserlichtabsorbierende Membran (1) und ein zum Tragen der laserlichtabsorbierenden Membran (1) vorgesehenes Trägermittel (2) zusammenhalten.

5

7. Trägervorrichtung nach Anspruch 6,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Trägermittel (2) aus Glas gefertigt ist.

10 8. Trägervorrichtung nach Anspruch 7,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Trägermittel eine Dicke von ca. 1 mm oder ca. 0,17 mm besitzt.

15 9. Trägervorrichtung nach einem der Ansprüche 1-6,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Trägermittel (2) eine Membran ist.

10. Trägervorrichtung nach Anspruch 9,
20 dadurch gekennzeichnet,
dass das Trägermittel (2) aus Teflon gefertigt ist.

11. Trägervorrichtung nach Anspruch 9 oder 10,
dadurch gekennzeichnet,
25 dass das Trägermittel eine Dicke von ca. 20 µm besitzt.

12. Trägervorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
30 dass die laserlichtabsorbierende Membran (1) hydrophilisiert ist.

13. Trägervorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
35 dadurch gekennzeichnet,

- 19 -

dass die Haltemittel (3, 4) umlaufend um die laserlichtabsorbierende Membran (1) ausgestaltet sind.

5 14. Trägervorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,
dass die Haltemittel (3, 4) in Form eines Rahmens, welcher die laserlichtabsorbierende Membran (1) spannt, ausgestaltet sind.

10

15. Trägervorrichtung nach Anspruch 14,
dadurch gekennzeichnet,
dass die laserlichtabsorbierende Membran (1) an dem Rahmen befestigt ist.

15

16. Trägervorrichtung nach Anspruch 15,
dadurch gekennzeichnet,
dass die laserlichtabsorbierende Membran (1) an dem Rahmen angeklebt ist.

20

17. Trägervorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Haltemittel (3, 4) Bestandteil einer Petrischale
25 sind.

25

18. Trägervorrichtung nach Anspruch 17,
dadurch gekennzeichnet,
dass die laserlichtabsorbierende Membran (1) am Boden der
30 Petrischale durch die Haltemittel (3, 4) gehalten ist.

30

19. Trägervorrichtung nach einem der Ansprüche 1-13,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Haltemittel (3) in Form eines Klebebands ausgestal-
35 tet sind, wobei die klebende Oberfläche des Klebebands (3)

35

- 20 -

einerseits auf der Randoberfläche der laserlichtabsorbierenden Membran (1) und andererseits auf einem die laserlichtabsorbierende Membran (1) tragenden Trägermittel (2) aufliegt.

- 5 20. Trägervorrichtung nach einem Ansprüche 6-11 oder 19,
dadurch gekennzeichnet,
dass die laserlichtabsorbierende Membran (1) unmittelbar auf
dem Trägermittel (2) aufliegt.
- 10 21. Trägervorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass ein Behälter (5) zum Aufnehmen des Präparats vorgesehen
und mit Hilfe von Befestigungsmitteln (6) an der Trägervor-
15 richtung lösbar befestigt ist.
22. Trägervorrichtung nach Anspruch 21,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Befestigungsmittel (6) derart ausgestaltet sind,
20 dass durch sie eine lösbare Klebeverbindung zwischen dem Behälter (5) und der Trägervorrichtung gegeben ist.
23. Trägervorrichtung nach Anspruch 21 oder 22,
dadurch gekennzeichnet,
25 dass die Befestigungsmittel (6) derart ausgestaltet sind,
dass die durch sie erzielte Befestigung des Behälters (5) an
der Trägervorrichtung durch Ausüben einer an dem Behälter (5)
oder der Trägervorrichtung angreifenden Kraft lösbar ist.
- 30 24. Trägervorrichtung nach einem der Ansprüche 21-23,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Behälter (5) mit Hilfe der Befestigungsmittel (6) an
den Haltemitteln (3, 4) der Trägervorrichtung befestigt ist.
- 35 25. Trägervorrichtung nach einem der Ansprüche 21-24,

- 21 -

dadurch gekennzeichnet,
dass der Behälter (5) derart ausgestaltet ist, dass bei Verwendung von lebenden Zellkulturen als das Präparat diese auf der Trägervorrichtung innerhalb des Behälters (5) wachsen
5 können.

1/2

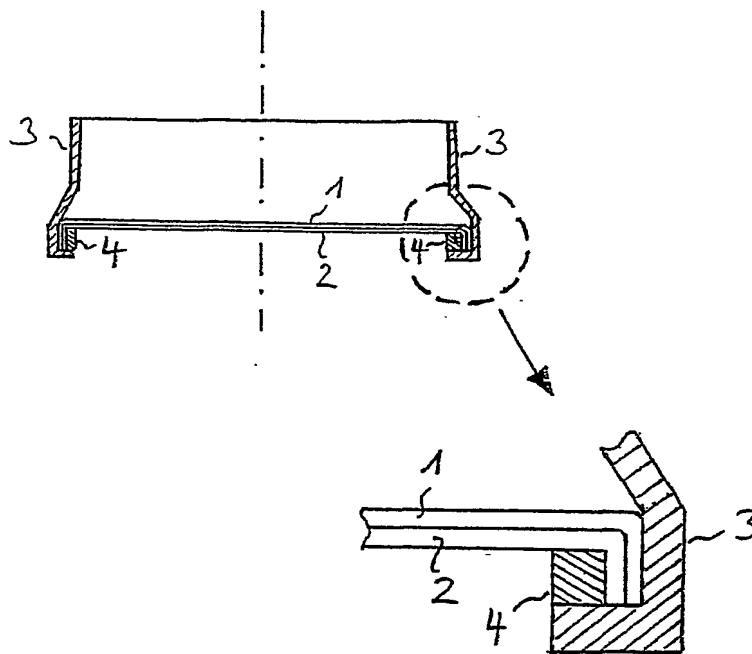


FIG. 1

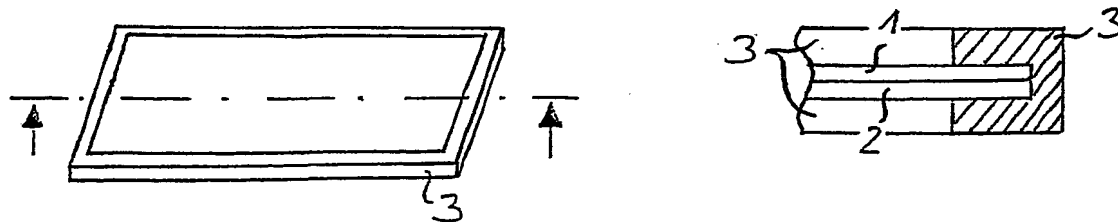


FIG. 2

2/2

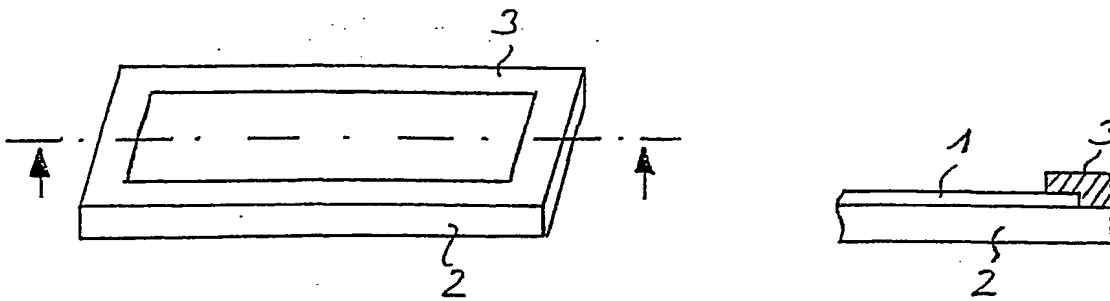


FIG.3

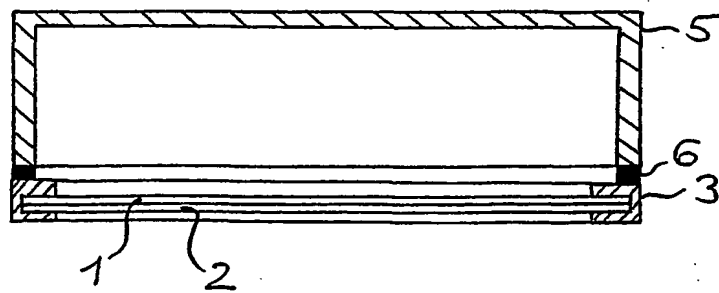


FIG.4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Application No.

PCT/EP 01/09468

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N1/28 G01N1/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 926 480 A (BOEHM MALTE DR) 30 June 1999 (1999-06-30) column 1, line 3 -column 5, line 5; claim 5; figures 1-6	1,4-11
X	WO 97 29355 A (P A L M GMBH ;SCHUETZE KARIN (DE); SCHUETZE RAIMUND (DE)) 14 August 1997 (1997-08-14) cited in the application	1,4
A	page 8, paragraph 6 -page 9, paragraph 1	2,3,5-25
A	US 5 294 695 A (LEE KWAN-HYUNG ET AL) 15 March 1994 (1994-03-15) column 1, line 12 -column 1, line 35	2
A	EP 0 993 964 A (MARKEM CORP) 19 April 2000 (2000-04-19) page 2, line 45 -page 3, line 31; figure 1	4-25
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

*** Special categories of cited documents:**

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 January 2002

Date of mailing of the international search report

04/02/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Thomte, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 01/09468

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EMMERT-BUCK M R ET AL: "LASER CAPTURE MICRODISSECTION" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, US, vol. 274, no. 5289, 8 November 1996 (1996-11-08), pages 998-1001, XP000644727 ISSN: 0036-8075 figure 1	1-25
A	SCHUETZE K ET AL: "CATCH AND MOVE - CUT OR FUSE" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, vol. 368, 14 April 1994 (1994-04-14), pages 667-669, XP000647487 ISSN: 0028-0836 the whole document	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Info on on patent family members

Information Application No

PCT/EP 01/09468

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0926480	A	30-06-1999	DE 19818425 A1 DE 29823783 U1 EP 0926480 A2	15-07-1999 08-06-2000 30-06-1999
WO 9729355	A	14-08-1997	DE 19603996 A1 DE 19616216 A1 AT 196360 T CA 2245553 A1 DE 29723120 U1 DE 59702347 D1 WO 9729354 A1 WO 9729355 A1 EP 0879408 A1 ES 2150754 T3 JP 2000504824 T US 5998129 A	14-08-1997 30-10-1997 15-09-2000 14-08-1997 14-05-1998 19-10-2000 14-08-1997 14-08-1997 25-11-1998 01-12-2000 18-04-2000 07-12-1999
US 5294695	A	15-03-1994	NONE	
EP 0993964	A	19-04-2000	EP 0993964 A2	19-04-2000

Internationales Aktenzeichen
PCT/EU 01/09468

Seite 1 von 2

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 993 964 A (MARKEM CORP) 19. April 2000 (2000-04-19) Seite 2, Zeile 45 -Seite 3, Zeile 31; Abbildung 1	4-25
A	EMMERT-BUCK M R ET AL: "LASER CAPTURE MICRODISSECTION" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, US, Bd. 274, Nr. 5289, 8. November 1996 (1996-11-08), Seiten 998-1001, XP000644727 ISSN: 0036-8075 Abbildung 1	1-25
A	SCHUETZE K ET AL: "CATCH AND MOVE - CUT OR FUSE" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, Bd. 368, 14. April 1994 (1994-04-14), Seiten 667-669, XP000647487 ISSN: 0028-0836 das ganze Dokument	1-25

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die derselben Patentfamilie gehören

Internationaler Dokumentenzeichen

PCT/EP 1/09468

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0926480	A	30-06-1999	DE 19818425 A1	15-07-1999
			DE 29823783 U1	08-06-2000
			EP 0926480 A2	30-06-1999
WO 9729355	A	14-08-1997	DE 19603996 A1	14-08-1997
			DE 19616216 A1	30-10-1997
			AT 196360 T	15-09-2000
			CA 2245553 A1	14-08-1997
			DE 29723120 U1	14-05-1998
			DE 59702347 D1	19-10-2000
			WO 9729354 A1	14-08-1997
			WO 9729355 A1	14-08-1997
			EP 0879408 A1	25-11-1998
			ES 2150754 T3	01-12-2000
			JP 2000504824 T	18-04-2000
			US 5998129 A	07-12-1999
US 5294695	A	15-03-1994	KEINE	
EP 0993964	A	19-04-2000	EP 0993964 A2	19-04-2000

THIS PAGE BLANK (USPTO)